FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1900 — N°

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue le Jeudi 17 Mai 1900, à 1 heure.

Par Edmond BIGART

Né à Paris, le 25 novembre 1873

Ancien interne des hôpitaux de Paris

RECHERCHES

SUR

LES ALBUMINES

DE LA CELLULE HÉPATIQUE

Travail du Laboratoire de M. le Professeur Hutinel

Président : M. HUTINEL, professeur.

Juges : MM. DIEULAFOY, professeur.
MARFAN et DUPRÉ, agrégés.

PARIS

G. STEINHEIL, ÉDITEUR

2, RUE CASIMIR-DELAVIGNE, 2

1900

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1900 — N°

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue le Jeudi 17 Mai 1900, à 1 heure.

Par EDMOND BIGART

Né à Paris, le 25 novembre 1873

Ancien interne des hôpitaux de Paris

RECHERCHES

SUR

LES ALBUMINES

DE LA CELLULE HÉPATIQUE

TRAVAIL DU LABORATOIRE DE M. LE PROFESSEUR HUTINEL

Président : M. HUTINEL, professeur.

Juges { MM. DIEULAFOY, professeur.
MARFAN et DUPRÉ, agrégés.

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

PARIS

G. STEINHEIL, ÉDITEUR

2, RUE CASIMIR-DELAVIGNE, 2

1900

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Doyen ..... M. BROUARDEL.

Professeurs	MM.
Anatomie	FARABEUF.
Physiologie	Ch. RICHET.
Physique médicale	GARIEL.
Chimie organique et chimie minérale	GAUTIER.
Histoire naturelle médicale	R. BLANCHARD
Pathologie et thérapeutique générales	BOUCHARD.
Pathologie médicale	DEBOVE. HUTINEL.
Pathologie chirurgicale	LANNELONGUE.
Anatomie pathologique	CORNIL.
Histologie	MATHIAS-DUVAL.
Opérations et appareils	BERGER.
Pharmacologie et matière médicale	POUCHET.
Thérapeutique	LANDOUZY.
Hygiène	PROUST.
Médecine légale	BROUARDEL.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	BRISSAUD.
Pathologie comparée et expérimentale	CHANTEMESSE
Clinique médicale	POTAIN. JACCOUD. HAYEM. DIEULAFOY.
Clinique des maladies des enfants	GRANCHER.
Clinique des maladies syphilitiques	FOURNIER.
Clinique de pathologie mentale et des maladies de l'encéphale	JOFFROY.
Clinique des maladies nerveuses	RAYMOND.
Clinique chirurgicale	DUPLAY. LE DENTU. TILLAUX. TERRIER.
Clinique ophtalmologique	PANAS.
Clinique des voies urinaires	GUYON.
Clinique d'accouchements	PINARD. BUDIN.

Agrégés en exercice.

MM.	MM.	MM.	MM.
ACHARD.	DESGREZ.	LEJARS.	THIÉRY.
ALBARRAN.	DUPRÉ.	LEPAGE.	THIROLOIX.
ANDRÉ.	FAURE.	MARFAN.	THOINOT.
BONNAIRE.	GAUCHER.	MAUCLAIRE.	VAQUEZ.
BROCA (Aug.).	GILLES de la TOURETTE.	MÉNÉTRIER.	VARNIER.
BROCA (André).	HARTMANN.	MERY.	WALLICH.
CHARRIN.	LANGLOIS.	ROGER.	WALTHER.
CHASSEVANT.	LAUNOIS.	SEBILEAU.	WIDAL.
Pierre DELBET.	LEGUEU.	TEISSIER.	WURTZ.

Chef des travaux anatomiques : M. RIEFFEL.

Secrétaire de la Faculté : M. PUPIN.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'École a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MON MAÎTRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR HUTINEL

Membre de l'Académie de médecine.

A LA MÉMOIRE DU REGRETTÉ

MONSIEUR HANOT

A MES MAÎTRES DANS LES HÔPITAUX

MESSIEURS ROBIN, LETULLE, DUFLOCQ

(Externat.)

MESSIEURS ALEX. RENAULT, AUDH'OUI, BOURCY, TALAMON, HUTINEL

(Internat.)

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547213_0017

RECHERCHES

SUR

LES ALBUMINES

DE LA CELLULE HÉPATIQUE

CHAPITRE PREMIER

Introduction.

Le foie a été très intimement étudié par les morphologistes. L'anatomie d'amphithéâtre a dénommé les détails de ses formes extérieures, l'histologie humaine et comparée a interprété l'obscurité de sa lobulation, la cytologie a déterminé l'aspect, la situation et les connexions de ses plus fines granulations protoplasmiques.

L'anatomie pathologique, d'autre part, a décrit des foies gros, petits, lisses, granuleux, des lobules disloqués par la diapédèse ou la sclérose, des cellules dégénérées ou atrophiées.

Mais si la dissociation du foie en ses éléments morphologiques est presque arrivée à ses limites, sa dissociation en éléments fonctionnels et en éléments chimiques est peu avancée.

La physiologie, malgré l'énorme œuvre accompli, ne nous donne guère ici que des bilans d'entrée et de sortie. Nous savons,

par exemple, que le foie importe du sucre inverti et qu'il exporte du glucose, nous savons qu'il peut entreposer quelque temps ces sucres sous forme de glycogène, mais nous ignorons presque tout de la manutention de ces corps.

Or, les phénomènes de la vie cellulaire hépatique semblent pouvoir être partiellement rapportés à des actions diastasiques, comme les phénomènes de la vie cellulaire végétale. Cl. Bernard a préparé un ferment hépatique, capable de transformer le glycogène en sucre. M. Richet a signalé un ferment uropoiétique, capable de transformer diverses substances en urée.

Mais si l'on cherche, comme je me proposais primitivement de le faire, à isoler ces enzymes, on est arrêté par une difficulté capitale : les enzymes adhèrent intimement aux molécules des albuminoïdes, il est donc nécessaire de savoir séparer et purifier ces albuminoïdes pour arriver à séparer et purifier les enzymes. D'autre part, si l'on cherche à mesurer l'activité des diastases, on est arrêté par une difficulté d'un autre ordre : après quelques heures de séjour à l'étuve, le foie réduit en bouillie se prend en un caillot d'où exsude un sérum ; il est nécessaire de connaître l'influence que cette coagulation pourra exercer sur l'activité des diastases qui travaillent dans un tel milieu.

Si l'on cherche alors à préparer les albumines du foie par les méthodes indiquées par les auteurs, on constate que ces méthodes sont infidèles ; elles ne permettent pas de séparer des espèces réellement distinctes (précipitation par les sels neutres) ou lèsent gravement les molécules albuminoïdes (coagulation par la chaleur).

C'est pour ces motifs que je me suis résolu à entreprendre le présent travail.

Je me suis borné strictement à la recherche des méthodes qui permettent de séparer les unes des autres, sans lésion grave de leurs molécules, les diverses albumines de la cellule hépatique, et à la détermination de leurs principaux caractères.

Ceci n'est pas une étude chimique, mais l'introduction, que

je crois indispensable à cette étude et à des recherches physiologiques.

On pourra trouver quelque avantage à étudier les enzymes, les albumines et les pigments dans des solutions pures, limpides, précipitables et resolubles à volonté, et non dans une bouillie trouble, infiltrable, riche en urée, en sels, en sucres, en extractifs, précipitant et coagulant hors de propos.

On pourra trouver quelque avantage à éviter l'action brutale de la chaleur et de l'alcool fort.

Enfin, et dans un ordre d'idées différent, il semble que les notions que nous possédons sur la cellule hépatique, sur sa structure fine et ses teintures, sur ses dégénérescences variées, sur ses atrophies aiguës ou chroniques, pourront être un peu plus aisément interprétées et complétées si l'on parvient à connaître les albumines qui la constituent.

CHAPITRE II

Historique.

Les plus anciennes recherches sur les albumines cellulaires hépatiques sont celles de Plosz (1) ; il convient de rapporter en détail sa méthode et les résultats auxquels il a abouti.

Plosz commence par établir une distinction entre les cellules vivantes, fraîches, qui sont molles et alcalines, et les cellules atteintes par la rigidité cadavérique, qui sont plus fermes et neutres ou acides ; c'est de celles-ci qu'il s'occupe tout d'abord.

Plosz a expérimenté sur des foies de chien et de lapin : il ne dit pas de quelle façon il tue ces animaux, ni après quel temps il prélève leur foie. L'organe est lavé au moyen d'une injection de sérum à 7,5 p. 1000 de NaCl poussée par la veine porte et par les voies biliaires à la pression de 0 m. 50 à 1 mètre, injection prolongée jusqu'à ce que le liquide sorte clair, ce qui dure d'une demi-heure à trois heures. De cette façon, la plus grande partie du sucre et du glycogène sont entraînés ; mais si le foie en contient beaucoup, leur disparition complète exige jusqu'à huit heures.

Le foie est alors haché et exprimé à travers un linge.

La bouillie qui s'écoule, examinée au microscope, montre des cellules hépatiques encore intactes, quelques leucocytes et hématies, des détritus granuleux ; si le foie a été broyé avec du sable, on ne trouve plus de cellules intactes. On ajoute à cette bouillie une solution de NaCl à 0,75 p. 100 : les cellules tombent au fond du vase en quelques heures ; le liquide qui surnage est alors

(1) Plosz. *Arch. f. die Gesammte Physiologie*, t. VII, p. 371, 1873.

prélevé avec une pipette. Il est trouble et ce trouble n'est pas dû à la présence du glycogène, car on l'observe aussi sur des foies exempts de glycogène, mais à la présence de granulations en suspension, si petites qu'elles passent à travers les papiers, et qui proviennent du protoplasma détruit mécaniquement. Après une première filtration on peut ajouter au résidu une nouvelle quantité de solution saline à 0,75 p. 100 : on obtient alors un liquide qui filtre clair et contient pourtant de notables quantités d'albumine.

Ces liquides contiennent :

1° Une albumine coagulable à 45° environ qu'on peut obtenir aussi par injection, à travers les vaisseaux du foie, de solutions de NaCl, SO^4Na^2, CO^3Na^2, NaOH, HCl, d'acide acétique et qui, par conséquent est soluble dans ces liquides.

La pepsine la digère sans laisser de résidu.

Chauffée en solution dans l'eau, elle se trouble vers 39°-40° et coagule à 45°. Mais elle coagule même à 40°, si on la maintient longtemps à cette température.

Après coagulation à 45° : *a*) le coagulum ne se redissout pas si l'on continue à élever la température ; *b*) le filtrat coagule encore si on le porte une seconde fois à 45° ; *c*) enfin le liquide filtré après cette deuxième coagulation se trouble encore vers 60°.

L'addition de sels abaisse le point de coagulation.

2° Une nucléo-albumine coagulable à 70°, qui reste en solution dans le liquide après qu'on en a retiré l'albumine coagulable à 45° : en effet, ce liquide mis à digérer dans la pepsine acidulée d'HCl à 2-4 p. 1000, à l'étuve, laisse un dépôt insoluble dans l'eau, les acides, les sels neutres, soluble dans les alcalis caustiques et les carbonates alcalins, dépôt blanc ou jaune ou brun, pulvérulent ou floconneux. Ce précipité, qui est une nucléine, contient du soufre et du phosphore ; calciné avec ménagement et incomplètement, il laisse un charbon très acide et riche en acide phosphorique. On peut aussi obtenir cette nucléine en coagulant la

nucléo-albumine par la chaleur et laissant digérer le coagulum, à l'étuve, dans l'acide acétique : la nucléine reste insoluble.

Les cellules épuisées par l'eau à 0,75 p. 100 de NaCl sont mises au contact d'une solution de NaCl à 10 p. 100 : elles lui abandonnent une albumine coagulable à 75°, précipitable par addition d'eau en excès, par NaCl en solution saturée ou en poudre, par HCl de ses solutions dans NaCl, transformable par HCl en acide d'albumine et soluble sans résidu dans la pepsine. C'est une sorte de globuline analogue à la myosine.

Les cellules épuisées par ces deux solutions salines abandonnent beaucoup d'albumine encore à une solution d'HCl à 0,4-1 p. 100.

Puis, mises au contact d'une solution de carbonate de soude, elles fournissent encore de l'albumine, et de la nucléine libre distincte de la nucléine du groupement nucléo-albumine.

Ces albumines des solutions chlorhydrique et alcaline sont insolubles dans l'eau et les sels neutres, difficilement solubles dans les acides concentrés à froid et les carbonates alcalins, plus facilement dans les carbonates alcalins à chaud, plus encore dans les acides à chaud, immédiatement dans NaOH à chaud.

En solution, elles se comportent comme des albuminates alcalins ou des acidalbumines.

Plosz a, en outre, cherché dans le foie la caséine ; mais comme la démonstration de la caséine insoluble ne peut se faire qu'après sa mise en solution dans les acides ou les alcalis, on peut craindre que ces réactifs ne soient eux-mêmes les agents de la transformation des albumines en albuminates ou acidalbumines : aussi ne croit-il pas pouvoir compter la caséine parmi les albumines cellulaires du foie.

Plosz étudie ensuite les cellules fraîches ; il lave le foie à l'eau glacée, le congèle, le pile et obtient un liquide dont les granulations bouchent les pores du filtre après quelques gouttes passées. Il y a retrouvé l'albumine coagulable à 45° et la nucléo-albumine. Enfin, il étudie le phénomène de la rigidité cadavérique

du foie, constate qu'un lavage prolongé à l'eau physiologique retarde ou empêche son apparition, que l'injection d'acide (sans excès) ou d'eau pure le provoquent. Il tend à le rattacher au phénomène de l'acidification du protoplasma, qui serait dû lui-même à la transformation de certains corps en acide lactique.

En somme, indépendamment des albumines insolubles des granulations, qu'on ne peut étudier sans les modifier profondément par des agents énergiques, Plosz décrit une nucléo-albumine, et trois albumines coagulables respectivement à 45°, 60°, 75°.

Halliburton (1) a repris l'étude des albumines cellulaires du foie. Il constate d'abord que le tissu hépatique, débarassé du sang par un lavage à l'eau physiologique, est alcalin à l'état frais, mais devient acide après un temps qui varie, suivant la température ambiante. Il a trouvé que les cellules hépatiques, séparées du stroma conjonctif, deviennent acides après 65' à 40°, et seulement après plus de deux heures, à la température du laboratoire. Il constate encore que le parenchyme hépatique, réduit en bouillie et exprimé à travers un linge, fournit un liquide trouble, et il attribue ce trouble à la présence du glycogène.

Pour isoler les albumines contenues dans ce liquide trouble, Halliburton les met en solution dans le So^4Mg à 5 p. 100, puis il sature la solution avec le même sel. Il précipite ainsi les globulines et nucléo-albumines, et une albumine reste en solution.

Les corps précipités par le sulfate de magnésie sont au nombre de trois :

1° Une substance protéique coagulable à 45°-50° entièrement précipitée par NaCl et So^4Mg à saturation.

La précipitation commence quand on ajoute à 100 c. c. de liquide 30 gram. de So^4Mg, et est complète quand on a ajouté 100 gram. de So^4Mg. La dialyse remet l'albuminoïde en solution.

Cette substance précipite entièrement par l'acide acétique dilué et se redissout dans un excès. Elle est digérée sans résidu

(1) Halliburton. *Journal of Physiology*, 1892.

par la pepsine. Elle paraît contenir du phosphore ; mais celui-ci n'est probablement qu'adhérent à la molécule, car il disparaît par un lavage prolongé à l'HCl dilué.

Ce sont là les caractères d'une globuline; Halliburton la nomme hépatoglobuline α;

2° Une substance protéique coagulable à 56°-60°, qui commence à précipiter par addition de 60 gram. de So^4Mg à 100 c. c. de liquide et n'est précipitée entièrement qu'à saturation complète. Elle n'est pas précipitée entièrement par NaCl. Elle est précipitée par l'acide acétique dilué, mais se redissout plus lentement que la précédente dans un excès d'acide.

Le coagulum obtenu par la chaleur contient du phosphore.

La digestion peptique la dissout en laissant un abondant résidu de nucléine : c'est une nucléo-albumine ;

3° Une substance protéique coagulable à 68°-70°, qui précipite par le So^4Mg aux mêmes doses que la précédente et, comme elle, incomplètement par NaCl. Elle précipite totalement par l'acide acétique et se redissout dans un excès ; elle précipite par dialyse et ne laisse pas de résidu après la digestion peptique : c'est l'hépatoglobuline β.

L'albumine non précipitée par le So^4Mg coagule à 70°-71°.

Enfin, Halliburton n'a trouvé dans le foie ni peptone, ni protéoses, ni myosine (il considère la rigidité comme due à la solidification des graisses), ni mucine, ni fibrin-ferment.

En résumé Halliburton trouve comme Plosz une albumine coagulable à 45°-50°, mais il n'en trouve aucune coagulable à 60° ni à 75° ; par contre, il en trouve deux coagulables à 70°. Enfin, la nucléo-albumine qui, pour Plosz, coagule à 75°, pour Halliburton coagule à 56°-60°.

Sans discuter les réultats obtenus par Halliburton, on peut reprocher à sa méthode d'attribuer une valeur absolue à la précipitation par les sels neutres et aussi d'attribuer *a priori* au parenchyme hépatique une composition analogue à celle du sang. Il se trouve que le sulfate de magnésie permet de séparer, dans

le sérum, la sérine de la globuline. Il y a là une circonstance heureuse (1), mais qui n'autorise pas à affirmer à l'avance qu'une substance donnée sera totalement précipitée ou nullement précipitée par ce sel : elle peut, en effet, être partiellement précipitée.

La méthode ne conserve sa valeur que si l'on vérifie ultérieurement que les albumines précipitées par SO^4 Mg sont réellement, par l'ensemble de leurs caractères, analogues entre elles, et distinctes des albumines restées en solution ; si l'on néglige cette vérification, on est exposé à dédoubler une substance unique et à rapprocher deux substances différentes.

(1) V. Duclaux. *Annales de l'Institut Pasteur*, passim.

CHAPITRE III

Technique. — Préparation et propriétés de la bouillie de foie.

La technique employée par Plosz me paraît être, d'une façon générale, propre à fournir un liquide dont les propriétés physiologiques et la composition chimique se rapprochent, au maximum, des propriétés et de la composition de la cellule vivante. Quel que soit l'objet qu'on se propose, recherche d'albumines, ou de ferments solubles, ou de pigments, il me paraît bon de s'adresser d'abord aux moyens purement mécaniques et d'éviter les actions chimiques (digestions artificielles peptique, tryptique, papaïnique) et les actions osmotiques (extraits glycérinés, salés) dont on peut mal mesurer l'influence nuisible sur des substances qu'on ne connaît pas.

Mais, précisément pour être à l'abri de ces influences chimiques et osmotiques, il me paraît nécessaire de modifier quelques détails de la technique de Plosz.

J'ai étudié presque exclusivement le foie du lapin : le chien est moins aisé à manier, le cobaye a un foie trop petit. Pour éviter la présence du glycogène dont l'opalescence gêne l'observation des phénomènes de coagulation, l'animal est soumis au jeûne : trois à quatre jours d'inanition suffisent pour en éliminer la plus grande partie ; on ne se trouve plus ainsi, sans doute, dans des conditions absolument physiologiques, mais je n'ai pu trouver de modifications des albumines par le fait du jeûne, à condition de ne pas le prolonger au delà du terme que j'indique.

En tout cas, ne doit-on pas sacrifier un animal en pleine diges-

tion : le foie m'a paru renfermer, dans ces conditions, des albuminoïdes incoagulables par la chaleur, précipitables par les sels neutres, et qui semblent se rapprocher des albumoses.

L'animal doit être tué par saignée rapide. Dès qu'il est mort, on introduit une canule dans la veine porte et on fait passer dans la circulation hépatique un courant de sérum physiologique tiède : je crains que le sérum glacé, tuant les leucocytes avant de les éloigner, n'ajoute les ferments excrétés par leurs cadavres aux ferments de la cellule hépatique.

Le lavage doit se faire à la pression de 0 m. 50 à 1 m. indiquée par Plosz.

Si l'on surveille le foie pendant cette opération, on constate que la teinte rouge du sang disparaît très rapidement ; le foie est alors jaune-brun ; il s'en faut, d'ailleurs, que tous les foies de lapins normaux présentent la même intensité de coloration. A mesure que le lavage se prolonge, la teinte du foie s'éclaircit ; ce n'est pas, pourtant, le départ de nouvelles quantités de sang qui produit ce changement de teinte : en effet, le liquide qui sort des veines sus-hépatiques contient de très rares hématies et présente à peine les raies spectroscopiques de l'hémoglobine ; je pense plutôt qu'un des pigments du foie est entraîné par le sérum, fait qui n'est peut-être pas sans intérêt en technique et en physiologie.

Pendant le lavage, le foie tantôt revient rigide, et tantôt reste flasque ; il m'a paru que la rigidité était plus précoce quand l'animal est tué sans hémorrhagie, ou par une hémorrhagie lente. Quoi qu'il en soit, et au point de vue qui nous occupe, je crois pouvoir affirmer que les albumines des foies rigides se présentent et se comportent comme celles des foies demeurés flasques ; aussi n'ai-je pas cherché à éviter la rigidité au cours de ces recherches, et n'en tiendrai-je pas compte.

Le foie, lavé, est coupé en morceaux, que l'on place quelque temps sur du papier à filtre pour permettre l'écoulement au dehors d'une partie du liquide contenu dans les vaisseaux.

Puis, on le broie dans un mortier de porcelaine avec du sable siliceux, bien lavé à l'acide chlorhydrique, puis à l'eau, séché et stérilisé au four.

Dans les premières minutes du broyage, la pâte est assez sèche, puis à mesure que les cellules détruites par les pressions donnent liberté à leur protoplasma, la pâte devient plus humide et demi-liquide ; on arrête le broyage quand cette liquéfaction ne progresse plus.

La bouillie ainsi préparée peut être traitée de deux façons distinctes :

On peut la placer dans un nouet de toile bien lavée et exempte d'amidon et soumettre ce nouet à la pression d'une forte machine. On obtient ainsi quelques grammes d'un liquide visqueux, opaque, de couleur café au lait, neutre ou faiblement acide, qu'il est impossible de filtrer sur papier ou sur bougie. Par abréviation, ce liquide sera nommé liquide B.

Mais l'emploi de ce procédé est pénible, et ne fournit qu'une faible quantité de matière ; aussi, après que je me fusse assuré que l'addition à un liquide B d'eau physiologique ou d'eau distillée en proportion modérée n'y précipitait aucune albumine, ai-je procédé de la façon suivante : la bouillie de foie et de sable est additionnée de sérum normal ou d'eau distillée en proportions pondérables déterminées. Le mélange trituré dans le mortier pendant quelques instants est exprimé à la main à travers un linge solide et lavé. Il est bon de s'assurer, précaution qui peut paraître puérile, que les mains ne sont ni acidifiées par un contact fortuit avec un acide fort au cours d'une opération antérieure, ni alcalinisées par le savon.

On obtient ainsi des quantités importantes de liquides.

Ils seront désignés par l'abrévation de liquides B + n sérum si on les a obtenus par addition à la bouillie de n parties, en poids, de sérum à 1 p. 100 pour une partie de foie, et de liquides B + n Aq, si on les a obtenus par addition d'eau distillée.

Ces liquides sont troubles, et ce trouble n'est pas une opales-

cence et n'est pas dû à la présence du glycogène, comme le pense Halliburton. En effet, le microscope y montre un nombre énorme de granulations très petites, libres ou agglutinées. L'iode les teint généralement en jaune, l'acide osmique en noircit quelques-unes, l'éther ne les dissout pas toutes ; il en est donc de graisseuses et de non graisseuses.

Si l'on cherche à se débarasser de ces granulations par filtration sur papier, mouillé ou non, on constate ceci : quelques gouttes passent troubles, puis la filtration s'arrête, même si l'on aspire au moyen d'une trompe.

Sur porcelaine on obtient un liquide clair mais qui passe très lentement, même au début. Comme, de plus, on sait que la porcelaine ne laisse pas passer également toutes les matières albuminoïdes ou les modifie au passage, ce moyen est à rejeter.

M. Richet est pourtant arrivé à obtenir un liquide clair après filtration sur papier ; je n'ai pu y parvenir, après nombre de tentatives, et j'ai dû chercher une autre méthode.

La centrifugation ne donne que des résultats insuffisants. Elle précipite quelques cellules intactes qui restent même après un broyage prolongé. Mais les fines granulations isolées, demeurent en suspension.

On arrive à la clarification cherchée en provoquant la formation d'un précipité au sein du liquide. Le précipité le moins offensif m'a paru être celui qui se produit par l'addition successive de Co^3Na^2 et de So^4Mg, à condition d'ajouter alternativement l'un et l'autre sel, par petites quantités, pour éviter un trop grand excès de carbonate alcalin. On prépare des solutions à molécules égales des deux sels, et, à 100 c. c. de liquide hépatique, on ajoute alternativement 10 c. c. de chaque solution jusqu'à formation d'un précipité assez abondant de carbonate de magnésie. La filtration se fait alors rapidement, sur papier Chardin, et on obtient un liquide clair, ambré, parfois opalescent s'il y a du glycogène en abondance. On a ainsi séparé du plasma soluble de la cellule hépatique, les granulations insolubles

dans les réactifs qui n'altèrent pas la molécule albuminoïde. Je signale ce procédé, parce qu'il me semble propre à rendre des services dans certains cas déterminés ; mais l'étude des albumines m'a permis de lui substituer une autre méthode, comme il sera dit au chapitre suivant.

L'étude des granulations protoplasmiques de la cellule hépatique et celle des albuminoïdes plus ou moins analogues aux albumoses, qui se trouvent dans les foies d'animaux en digestion, ne trouveront pas place dans ce travail.

CHAPITRE IV

Cytosine hépatique.

Les liquides obtenus par expression de la bouillie de foie, avec ou sans dilution préalable dans le sérum physiologique ou l'eau, changent très rapidement d'aspect, si on les additionne d'acide acétique jusqu'à ce qu'ils rougissent faiblement le tournesol.

Ils étaient homogènes, ils deviennent grumeleux et prennent l'apparence de café au lait caillé. Une goutte étalée sur une lame de verre se montre formée de petites masses cohérentes, opaques, nageant dans un sérum clair. Enfin, la filtration, désormais aisée et rapide, permet de séparer un liquide transparent, opalescent si le foie contenait du glycogène, ambré, et un précipité abondant, brunâtre, caséeux, qui reste sur le filtre.

Il résulte de là que le protoplasma hépatique renferme en solution une substance précipitable par l'acide acétique ajouté en petite quantité, et soluble dans le NaCl à 1 p. 100 et dans l'eau. Cette substance sera étudiée dans ce chapitre sous le nom, qui sera discuté plus loin, de cytosine hépatique ; le liquide transparent que la filtration en sépare sera étudié dans le chapitre suivant, et désigné par l'abréviation de liquide C.

Mais la masse recueillie après acidification et filtration n'est pas la cytosine pure. Elle renferme, en outre, les granulations hépatiques emprisonnées par la précipitation de la cytosine, comme le sont les hématies par la coagulation de la fibrine.

En vue d'arriver à une méthode de purification de cette substance, il est nécessaire de connaitre ses réactions essentielles, pour éviter de l'altérer par des manipulations intempes-

tives et pour la reconnaître à la fin de l'opération. Nous l'étudierons donc d'abord dans le liquide B, dilué ou non.

Étude de la cytosine hépatique dans le liquide B. — I. *Action des acides. Influence des sels sur cette action.* — § **1.** — Le fait de la précipitation de la cytosine par l'acide acétique à faible dose se constate facilement.

Si pour observer la marche du phénomène on verse l'acide par très petites fractions et à des intervalles de plusieurs minutes, on remarque : 1° que la précipitation débute instanément, dès que la dose d'acide suffisante est atteinte, c'est-à-dire qu'une dose qui ne produit rien immédiatement ne produira rien après 5 minutes ; 2° que cette dose minima suffisante pour mettre en marche la précipitation n'est pas suffisante pour la rendre complète instantanément : en effet, si l'on filtre immédiatement, le liquide filtré, clair au début, se trouble bientôt ; c'est que l'acide qui s'y trouve continue à y précipiter de nouvelles parties de cytosine ; tandis que si l'on filtre après quelques minutes, le liquide filtré ne se trouble plus secondairement ; 3° que cette même dose minima, si on la laisse agir assez longtemps, suffit à précipiter toute la cytosine précipitable par l'acide acétique dans le milieu donné : en effet, de nouvelles doses d'acide ajoutées au liquide filtré ne le troublent pas.

§ **2.** — Mais si l'on cherche à déterminer exactement la dose minima, on s'aperçoit qu'elle diffère notablement d'un foie à l'autre, et, pour un foie donné, d'une solution à l'autre. On est amené à penser que ces différences proviennent de la richesse variable, en sels neutres, des liquides sur lesquels on opère. On peut vérifier cette hypothèse par les expériences suivantes :

1° A des volumes égaux des liquides B + 2 Aq et B + 8 Aq provenant du même foie, on ajoute alternativement et par petites fractions des quantités égales d'acide.

Le liquide B + 8 Aq précipite d'abord, c'est-à-dire que la

dose suffisante pour le précipiter n'est pas suffisante pour précipiter le liquide B + 2 Aq. Mais cette expérience ne fournit qu'une présomption, car la différence peut tenir à la moindre richesse du liquide B + 8 Aq en cytosine.

2° On répète l'expérience avec des volumes égaux des liquides B + 8 Aq et B + 8 sérum.

Le liquide B + 8 Aq précipite le premier.

3° On introduit, dans deux tubes, 10 c. c. du liquide B + 8 Aq, puis la dose d'acide minima suffisante pour les précipiter. On ajoute, d'autre part, cette même dose d'acide à 10 c. c. d'eau distillée, et aussi à 10 c. c. d'une solution de NaCl à 1 p. 10. Dans un des tubes de liquide B + 8 Aq on verse l'eau distillée acidulée : le précipité ne se modifie pas. Dans l'autre, on verse la solution saline acidulée : le précipité se redissout lentement, bien que le taux de l'acidité du milieu n'ait pas changé.

On peut aller plus loin et montrer que les sels séparent les molécules de cytosine présentes en deux groupes : celles dont la précipitation est possible, et celles qui sont imprécipitables même dans un excès d'acide. Pour mettre en évidence ces dernières, précipitons le liquide B + 2 Aq par la dose minima d'acide acétique : le filtrat ne précipite pas par adjonction de nouvelles quantités d'acide. Allongeons ce filtrat de 2 volumes d'eau distillée, pour réduire la proportion des sels contenus dans l'unité de volume : le liquide, additionné d'acide, se trouble par précipitation de cytosine. Il y avait donc dans le filtrat des molécules imprécipitables que la dilution a rendues précipitables.

Il ressort de ces faits que la détermination d'une dose minima suffisante pour précipiter la cytosine d'un milieu quelconque est impossible : mais, au point de vue pratique, il importe de dire qu'une dose d'acide acétique correspondant à 0 gr. 25 d'HCl suffit à précipiter un litre de la solution B + 8 Aq.

§ **3**. — Les acides minéraux dilués, les acides organiques

(acides oxalique, tartrique, lactique de fermentation, citrique) précipitent la cytosine du foie. Si l'on étudie en particulier l'action de l'HCl, on constate que la présence des sels la modifie comme elle modifie l'action de l'acide acétique.

§ **4**. — Un courant d'acide carbonique ne modifie aucunement le liquide B + 2 Aq il semble donc que la cytosine hépatique ; ne soit pas précipitée par CO^2. Mais ce que nous savons maintenant de l'influence des sels sur la précipitation par les acides nous amène à penser que CO^2, inactif vis-à-vis de la solution B + 2 Aq, pourra agir sur une solution moins riche en sels. En effet, un courant d'acide carbonique, traversant une éprouvette pleine du liquide B + 8 Aq en précipite complètement la cytosine, qui se redissout immédiatement si l'on ajoute des sels au liquide. Le liquide B + 8 sérum ne précipite pas par CO^2.

Par conséquent, la cytosine du foie est précipitable par CO^2 de ses solutions pauvres en sels.

§ **5**. — Après avoir additionné un des liquides B de la quantité d'acide capable d'y précipiter la cytosine, on continue à y ajouter des doses successives d'acide ; les premières doses ne produisent aucun changement, puis on atteint un degré d'acidité tel que le précipité se redissout, les grumeaux disparaissent, la filtration redevient impossible.

Si l'on étudie le phénomène de la redissolution dans les divers liquides B, on constate que, comme le phénomène de la précipitation, il est influencé par la présence des sels. En effet :

1° Des volumes égaux des liquides B + 2 Aq et B + 8 Aq sont additionnés de doses successives d'acide acétique. On constate qu'une dose d'acide qui suffit à redissoudre la cytosine dans B + 8 Aq ne suffit pas à la redissoudre dans B + 2 Aq.

2° On répète l'expérience avec des volumes égaux de B + 8 Aq et B + 8 sérum : la cytosine du liquide B + 8 Aq est redissoute la première.

3° On additionne un des liquides B d'une solution saturée de

NaCl, ou de SO^4Mg : la cytosine ne se redissout plus, même dans un excès d'acide (1).

Il ressort de ces faits que la détermination d'une dose minima suffisante pour redissoudre la cytosine d'un milieu quelconque est impossible ; mais au point de vue pratique, il importe de dire qu'une dose d'acide acétique correspondant à 1 gram. d'HCl suffit à redissoudre la cytosine précipitée dans un litre de la solution B + 8 Aq.

§ **6**. — Les acides minéraux et les acides organiques énumérés au § **3**, ajoutés en excès, redissolvent la cytosine. Nous verrons plus loin que l'acide nitrique doit être excepté de cette règle, mais si l'on opère sur le liquide B, la précipitation des autres albumines de ce liquide par AzO^3H ne permet pas d'observer les modifications de la cytosine.

Enfin l'acide carbonique, en solution saturée à la pression atmosphérique, ne parvient pas à redissoudre la cytosine hépatique, même dans les solutions les plus pauvres en sels.

§ **7**. — Les acides minéraux concentrés précipitent ou coagulent les albumines des liquides B. Mais cette réaction, très générale, est sans intérêt pour nous.

II. — *Action des sels*. — § **1**. — Le chlorure de sodium, ajouté en poudre fine et en excès aux liquides B, n'y provoque la formation d'aucun précipité, et ces solutions saturées filtrent péniblement et troubles. Le sulfate de magnésie, dans les mêmes conditions, détermine l'apparition d'un faible précipité : le liquide saturé filtre clair. Dans le filtrat, après dialyse, on pourrait rechercher la cytosine, mais il est préférable d'étudier l'action de ce sel sur les solutions pures d'albumine. Le sulfate d'ammoniaque précipite complètement les albumines des liquides B : le

(1) L'observation est malaisée dans ces conditions, car l'acide, en présence des sels, précipite d'autres albumines.

filtrat ne coagule plus par l'acide nitrique ni par la chaleur. Ce sel précipite donc totalement la cytosine.

Les sels alcalins (CO^3Na^2) ne modifient pas visiblement le liquide B. Peut-être dissolvent-ils partiellement les granulations, mais je ne puis me prononcer sur ce point. Les solutions de ces sels, ajoutés à des liquides renfermant déjà un acide, saturent progressivement cet acide : si, par exemple, une solution contient la cytosine dissoute dans un excès d'acide, l'addition d'une certaine dose de CO^3Na^2 précipite cette cytosine en saturant l'excès, puis une nouvelle dose la redissout en neutralisant la liqueur : ce sont les phénomènes déjà connus, observés dans l'ordre inverse.

§ **2**. — La cytosine hépatique paraît précipiter quand on dialyse le liquide B.

Après 36 heures de dialyse, à basse température pour éviter la coagulation spontanée, le liquide B + 8 Aq laisse déposer au fond du dialyseur des masses opaques, solubles facilement dans le CO^3Na^2, dans les acides en excès, plus difficilement dans les sels neutres et qui, après cette dissolution, se comportent comme la cytosine.

Je n'ai pas prolongé la dialyse au delà de trente-six heures, car dans le liquide B, même non dialysé, même à basse température, la cytosine se précipite spontanément en quelques jours : la précipitation dans le liquide dialysé ne serait donc pas démonstrative.

III. — *Action des alcalis*. — Il est presque inutile de dire que, comme les carbonates alcalins, les alcalis neutralisent les solutions acidifiées, et reprécipitent ou redissolvent, suivant le cas, la cytosine. Ajoutés à des liquides neutres, ils ne la précipitent pas, mais dissolvent les granulations. Ce sont donc des réactifs dangereux.

IV. — *Action de la chaleur. Influence des sels, des alcalis et des acides sur cette action.* — § **1**. — Les liquides B, chauf-

fés, coagulent bien avant 100° et le liquide clair que le filtre sépare du coagulum ne précipite pas par l'acide acétique.

Par conséquent la cytosine hépatique coagule par la chaleur.

Pour déterminer son point de coagulation dans les liquides B, il ne suffit pas, *a priori*, de déterminer la température à laquelle il faut élever ces liquides pour qu'ils filtrent clair, car le « collage » des granulations pourrait être provoqué par la coagulation d'une autre albumine. Il faut déterminer aussi la température à laquelle le filtrat clair ne contiendra plus de substance précipitable par les acides.

En fait cette distinction est superflue car l'expérience montre que la coagulation de la cytosine peut seule amener la clarification du liquide B.

Les liquides B + 2 A q ou B + 8 A q ne filtrent pas s'ils n'ont été portés à 58° C. A cette température se forme un coagulum volumineux, le liquide filtre clair et dans le filtrat il ne reste pas trace de cytosine. — Par conséquent 58° paraît être la température de coagulation de cette albumine.

On verra plus loin que les autres albumines coagulent dès 48°, mais le coagulum, pourtant volumineux, qui se forme, n'emprisonne pas les granulations, ce qui tient peut-être à ce que celles-ci, dans la cellule hépatique, sont en contact immédiat avec la cytosine et médiat avec les autres albumines.

§ **2**. — L'addition de sels ne m'a pas paru déplacer sensiblement le point de coagulation de la cytosine. En solution saturée de NaCl, la coagulation s'est produite vers 59°-60°, différence qui ne dépasse pas les limites de l'erreur possible.

La soustraction des sels par la dialyse exerce une tout autre influence : le liquide B + 8 Aq, dialysé pendant trente-six heures, ne filtre pas clair, même après chauffage à 100°. Si on l'additionne de sels à froid ou à chaud, la propriété de coaguler reparaît immédiatement.

Préparation de la cytosine pure. — Les données que

nous possédons maintenant sur les propriétés essentielles de la cytosine hépatique nous permettent de rechercher utilement une méthode de purification de cette substance.

§ **1**. — Le liquide préférable est le liquide B + 8 Aq. En effet, dans un milieu plus riche en sels, la cytosine n'est pas précipitée par CO^2, et n'est pas précipitée totalement par l'acide acétique. De plus, ce qui est impossible avec des milieux plus denses, cette dilution permet de recueillir le précipité par centrifugation, méthode plus rapide que la filtration et par là même plus avantageuse.

L'acide préférable est évidemment l'acide carbonique, dont on ne peut pas craindre qu'il modifie gravement les albumines.

De plus, le précipité qu'il donne est immédiatement soluble dans l'eau distillée, tandis que le précipité formé par l'acide acétique garde en lui des traces d'acide, et ne se redissout que si on neutralise l'acide par CO^3Na^2.

§ **2**. — Après avoir produit et recueilli le précipité, on l'additionne d'eau distillée. Si on s'est servi de CO^2, le précipité se redissout immédiatement. Si l'on s'est servi d'acide acétique, les grumeaux restent en suspension sans se dissoudre, le liquide est brun, opaque ; on ajoute alors goutte à goutte, une solution à 1/10 de CO^3Na^2 : au moment où le liquide devient neutre, il vire brusquement et devient translucide (non pas transparent) ; la cytosine est redissoute.

Si l'on reprécipite alors les solutions par CO^2, qu'on recueille le nouveau précipité et qu'on essaye de le redissoudre dans l'eau distillée, on constate qu'il y est insoluble.

Ce fait conduit à penser que le premier précipité se redissolvait à la faveur des sels neutres ou alcalins demeurés dans ses flocons : en effet, dès qu'on ajoute à cette eau distillée, incapable de dissoudre la cytosine reprécipitée, une trace de carbonate sodique ou une faible quantité de certains sels, le liquide s'éclaircit et la redissolution se fait.

§ **3**. — Par ces dissolutions et précipitations successives, on parvient rapidement à débarrasser la cytosine des moindres traces, d'autres albumines, d'urée, qui l'imprégnaient, mais les granulations lui demeurent attachées, et si étroitement qu'il est difficile de les éliminer :

1° Dans un grand nombre de cas favorables, le liquide obtenu par redissolution du *premier* précipité filtre clair, quoique lentement ; on a alors, sans difficultés, une solution de cytosine qu'on peut ensuite, par précipitations successives, débarrasser des albumines et sels qu'elle contient encore.

2° Mais, dans d'autres cas, la redissolution du premier précipité fournit un liquide qui filtre trouble ; il est inutile d'essayer des reprécipitations et redissolutions successives, on n'arrivera pas à se débarrasser des granulations par le filtre. Il faut les entraîner en produisant dans le liquide un précipité salin. On ajoute alternativement à la liqueur des volumes égaux de solutions à molécules égales de SO^4Mg et de CO^3Na^2. Le carbonate de magnésie se précipite, entraînant les granulations et aussi une partie de la cytosine, mais la liqueur claire qu'on obtient, débarrassée par une dialyse de vingt-quatre heures d'un excès de carbonate de soude qui reste toujours en solution, puis additionnée d'acide acétique fournit la cytosine en quantité suffisante.

Je ne me dissimule pas les inconvénients de cette clarification par le carbonate de soude, qui peut dissoudre les granulations, et le sulfate de magnésie (1). Mais on est amené à l'employer quand, après avoir redissous le premier précipité, la liqueur demeure infiltrable.

§ **4**. — Une méthode tout à fait différente donne plus aisément de meilleurs résultats, mais elle ne fournit qu'une partie de la cytosine hépatique. On acidifie le liquide B + 2 sérum, on filtre. Le

(1) La production d'un precipité de sulfate de Baryum a l'avantage de n'introduire dans la liqueur que des sels neutres, mais il entraîne toute la caséine.

filtrat renferme de la cytosine, imprécipitable à cause de la présence des sels. On dilue d'eau distillée, ou on dialyse : la cytosine devient précipitable ; on la précipite par CO^2 et on la recueille sur un filtre : on peut la purifier par reprécipitations successives.

On obtient par ces méthodes un produit pur dont je vais étudier maintenant les réactions essentielles.

Étude de la cytosine purifiée. — § **1.** — La cytosine hépatique purifiée, dissoute dans l'eau à la faveur d'une trace de carbonate de soude, donne une solution limpide et incolore. Précipitée, c'est une masse blanche, opaque, gluante ; déssechée, elle est d'un jaune brunâtre ; ses solutions donnent les réactions générales des albuminoïdes, précipitent par l'acide azotique sans redissolution dans un excès, précipitent par le ferrocyanure de potassium acétique sans redissolution dans un excès d'acide, précipitent par l'alcool concentré, par les sels des métaux lourds; par l'iodure de mercure et de potassium ; se colorent en violet par le sulfate de cuivre en présence de la potasse en excès ; se colorent en rouge à chaud par le nitrate acide de mercure.

§ **2.** — La cytosine hépatique est insoluble dans l'eau distillée. Les alcalis et carbonates alcalins, aux plus faibles doses, la dissolvent immédiatement ; le phosphate de soude, plus lentement, et à plus forte dose ; l'oxalate de potasse immédiatement et dès la dose de 1/500 ; l'oxalate d'ammoniaque plus lentement et à plus forte dose ; les sulfates d'ammoniaque et de magnésie, rapidement et depuis la dose de 1/50 environ ; le chlorure de sodium, lentement et à partir de 1/50 environ ; le fluorure de sodium, très lentement au 1/100 ; le chlorure de calcium, assez rapidement.

Les acides minéraux et organiques, aux doses qui redissolvent le précipité formé par eux dans la solution carbonatée sodique, dissolvent directement la cytosine mise en suspension dans l'eau distillée. Il faut en excepter l'acide azotique.

L'examen de ces phénomènes de dissolution dans les sels, et

ce que l'on sait de la composition des milieux organiques donnent à penser que cette albumine se trouve dissoute dans la cellule hépatique, non pas à la faveur des chlorures ou des sulfates, qui s'y trouvent à une dose insuffisante, mais bien à la faveur des carbonates et peut-être des phosphates alcalins.

§ **3.** — Les acides précipitent la cytosine purifiée, en solution dans le minimum de carbonate de soude, comme ils la précipitent dans les limites B.

Dans ce milieu qui est pour ainsi dire exempt de sels, les moindres doses d'acide ou d'alcali sont efficaces : par exemple, l'addition alternative d'une goutte des solutions d'acide acétique et de carbonate de soude à 1/10 suffit à faire « virer » 100 c. c., de la solution de cytosine, aussi nettement que virerait une solution de phénol-phtaléine. Les solutions dans le minimum de carbonate de soude, ou les solutions dans les alcalis, neutralisées, précipitent par l'acide carbonique.

Les solutions dans les sels neutres sont moins sensibles à l'action des acides : cela tient à la présence des sels et non à l'absence des alcalis. En effet, 1° si on les dilue elles deviennent progressivement plus sensibles et à un certain degré de dilution précipitent par CO^2 ; 2° les solutions dans l'oxalate de potasse, qui sont possibles à la dose de 1/500 de sel, sont précipitables par CO^2 et non les solutions dans NaCl, qui exigent la présence de 1/50 de sel environ ; 3° ces solutions dans CO^3Na^2, additionnées de sels, perdent le pouvoir de précipiter par CO^2. Il m'a paru que la présence de 1/80 à 1/100 de NaCl dans une solution de cytosine suffisait à empêcher la précipitation par CO^2.

§ **4.** — Les acides (sauf CO^2 et AzO^3H) en excès redissolvent la cytosine purifiée comme ils redissolvaient la cytosine des liquides B. La redissolution n'est possible que dans les milieux pauvres en sels : la présence de 1/40 de NaCl empêche la redissolution par l'acide acétique en excès.

§ **5**. — Le chlorure de sodium, ajouté en poudre fine et en excès aux solutions de cytosine, n'y détermine l'apparition d'aucun précipité. Le sulfate de magnésie, dans les mêmes conditions, fait naître un précipité peu abondant ; la liqueur filtrée après saturation contient encore de la cytosine. Le sulfate d'ammoniaque précipite complètement cette albumine : la liqueur filtrée après saturation ne coagule ni par l'acide nitrique, ni par la chaleur.

§ **6**. — La chaleur ne coagule pas les solutions de cytosine dans le minimum de carbonate de soude ou d'alcali, elle les coagule dès qu'on y ajoute des sels neutres en quantité suffisante ; elle coagule les solutions dans les sels neutres si les sels y sont en proportion suffisante, et, semble-t-il, quels que soient ces sels. La proportion minima de NaCl nécessaire pour obtenir un coagulum net est de 1/120 à 1/100 environ ; à la dose de 1/80 le coagulum est mieux formé et rétractile.

La coagulation de la cytosine s'opère en milieu neutre, mais un très léger degré d'alcalinité, dû à l'addition de carbonate de soude ou d'ammoniaque, ne l'empêche pas de se produire. Au contraire un excès d'alcalinité empêche la coagulation, qui redevient possible dès qu'on sature l'alcali.

Parallèlement, une dose faible ou forte d'acide acétique empêche la coagulation, qui redevient possible dès qu'on sature l'acide.

Le coagulum formé à chaud dans les milieux neutres n'est pas soluble dans un excès d'acide ou d'alcali.

Dans les solutions qui renferment la proportion minima de NaCl, un trouble apparaît dès 54°-55°, mais le coagulum ne se forme qu'à 58°, chiffre identique au chiffre trouvé par l'observation du liquide B.

§ **7**. — Le coagulum formé à chaud, ou la cytosine non coagulée, sont solubles sans résidu dans la pepsine chlorhydrique, à l'étuve.

Le coagulum formé à chaud ne se dissout pas dans les sels (NaFl à 1 p. 100), les acides, ou les alcalis faibles, après séjour à l'étuve.

§ 8. — La filtration, sur bougie de porcelaine, de la cytosine hépatique, paraît modifier nettement cette albumine. Les premières parties qui passent sont formées d'eau presque pure, puis l'albumine apparaît, mais elle a perdu la propriété de précipiter par l'acide acétique, et n'est décelable que par les réactions générales des albuminoïdes ; je n'ai pas fait l'étude de cette substance transformée.

Position de la cytosine hépatique la classification des albuminoïdes. — I. — *Parallèle entre la cytosine et les albumines de Plosz et de Halliburton.* — Si l'on veut bien se reporter aux recherches de Plosz, résumées au chap. II, on conviendra qu'il m'est extrêmement difficile de savoir à laquelle des albumines qu'il décrit la cytosine correspond. Elle a dû être dissoute par le sérum à 0,75 p. 100 qu'il a tout d'abord ajouté à la bouillie de foie : elle serait alors la cause du trouble observé à 60° dans le liquide ainsi préparé (?).

Les résultats obtenus par Halliburton paraissent d'une interprétation plus facile : tous s'éclairent parfaitement si l'on veut supposer qu'une petite quantité d'acide, introduite fortement, a précipité partiellement la cytosine dans sa solution sulfatée magnésienne. Cette hypothèse explique pourquoi ses liqueurs ont filtré, pourquoi le trouble qu'on y observe a pu être attribué légitimement par lui à la présence du glycogène, les granulations ayant été agglomérées par la précipitation de la cytosine et retenues par le filtre. Elle nous expliquera aussi, au chapitre suivant, pourquoi ses globulines lui ont paru précipitables par la dialyse, précipitables par les acides et resolubles dans un excès ; propriétés qu'il convient d'attribuer à de la cytosine restée en solution, l'acide hypothétique n'ayant pu la précipiter totalement en présence des sels.

Quoi qu'il en soit, aucune des albumines isolées par Halliburton ne correspond, même approximativement à l'albumine étudiée dans ce chapitre. En effet l'hépatoglobuline α coagule à 45°-50°, l'hépatoglobuline β coagule vers 70°, elles précipitent totalement

par SO^4Mg, partiellement par NaCl. L'hépatoalbumine coagule vers 70°. Enfin la méthode de séparation de ces diverses albumines diffère radicalement de la méthode de séparation de la cytosine : ces deux méthodes ne peuvent donc conduire à des résultats comparables.

II. — *Parallèle entre la cytosine, les globulines et les caséines.* — La substance étudiée dans ce chapitre ne trouve de place adéquate dans aucun des groupes d'albuminoïdes. Cela n'a rien de surprenant : ces groupes ont été créés pour établir des rapprochements et des distinctions entre les albuminoïdes des humeurs et des sécrétions. On y a fait entrer les albumines musculaires, les seules albumines protoplasmiques bien étudiées jusqu'à ce jour. Est-il possible de faire entrer la cytosine hépatique, soit dans le groupe des globulines, soit dans le groupe des caséines, groupes dont elle se rapproche le plus ?

Comme les globulines et les caséines, la cytosine est insoluble dans l'eau et s'y dissout à la faveur des sels ; elle est précipitée par les acides faibles.

Comme les globulines, elle précipite par CO^2 de ses solutions neutres ou alcalines neutralisées ; mais elle n'est pas, comme elles, précipitée totalement par le sulfate de magnésie en poudre, ni insoluble dans un excès d'acide. Comme les caséines, elle se redissout dans un excès d'acide, se dissout facilement dans l'oxalate de potasse ; mais elle n'est pas, comme elles, incoagulable à chaud.

A cause de ces différences, je n'ai pas cru pouvoir donner le nom de globuline ou de caséine à l'albumine étudiée dans ce chapitre. A cause de la présence, que j'ai pu constater, de substances analogues dans d'autres parenchymes glandulaires, j'ai cru pouvoir lui donner un nom générique, et non spécifique.

Si un groupe de cytosines se constitue ultérieurement sous ce vocable ou sous un autre, il sera sans doute très voisin du groupe des globulines, albumines cellulaires des globules rouges, et du groupe des caséines, albumines cellulaires de l'épithélium mammaire.

CHAPITRE V

Cellulines hépatiques.

Après acidification des liquides B, le filtre qui retient la cytosine hépatique laisse passer des liquides clairs, ambrés, opalescents s'ils sont chargés de glycogène : nous les dénommerons, par abréviation, et selon leur dilution, liquide C, C + 2 Aq, C + 8 Aq ; etc. On sait que les liquides C, C + 2 Aq ne sont pas purs et qu'ils contiennent de la cytosine imprécipitable, qui devient précipitable après qu'on a diminué la proportion des sels présents par la dilution ou la dialyse.

Au contraire, le liquide C + 8 Aq ne contient généralement pas de cytosine. Il convient pourtant de s'en assurer en diluant un échantillon avec son volume d'eau distillée, et en acidifiant ce mélange : si un trouble se produisait dans ces conditions, il faudrait diluer, acidifier et filtrer tout le liquide à étudier.

De plus, il est bon de précipiter le liquide B initial par l'acide acétique et non par CO^2, car le précipité formé par ce dernier est plus fin, passe en très faible proportion à travers le filtre et trouble le liquide C.

On peut encore préparer directement un liquide C pur et clair par le moyen suivant : une certaine quantité de bouillie hépatique est étalée au moyen d'une spatule sur une feuille de papier à filtre. Le papier est replié de façon à envelopper complètement la bouillie ; puis, le paquet est immergé *doucement* dans l'eau distillée. Au bout de vingt-quatre heures, à la glacière, les albumines de la bouillie ont diffusé, au travers du papier, dans l'eau distillée. La cytosine et les granulations n'ont pas traversé le filtre.

Le liquide C, préparé par ces différentes méthodes, précipite par l'acide nitrique sans redissolution du précipité dans un excès, précipite par le ferro-cyanure de potassium acétique, même en présence du So^4Mg, sans redissolution du précipité dans un excès d'acide, précipite par l'alcool concentré, par les sels des métaux lourds, par l'iodure de potassium et de mercure, se colore en rouge, à chaud, par le nitrate acide de mercure. Le sulfate de cuivre en présence d'un excès de potasse le colore en rose violacé. Ces réactions diverses démontrent que les liquides C renferment une ou plusieurs albumines.

Le nom de globulines, qui leur a été donné par Halliburton et sera discuté plus loin, ne paraît pas leur être applicable : sous le nom de cellulines, nous les étudierons d'abord dans le liquide C + 8 Aq, puis nous chercherons une méthode propre à les purifier, et nous vérifierons, sur les solutions pures, les observations faites sur le liquide original.

Étude des cellulines hépatiques dans le liquide C. — I. — *Action des sels neutres. Influence des acides sur cette action.* — § **1**. — Le chlorure de sodium, ajouté en poudre fine et en excès aux liquides C neutralisés, n'y provoque la formation d'aucun précipité.

Le sulfate de magnésie, dans les mêmes conditions, précipite une petite partie des cellulines, et laisse la plus grande partie en solution : on obtient à peine un trouble léger, dû à un précipité si ténu qu'il passe au travers des filtres, et qu'il est très difficile de le recueillir.

Le sulfate d'ammoniaque, en poudre et en excès, les précipite en totalité.

La précipitation par le sulfate d'ammoniaque commence dès que le liquide contient 130 gram. à 140 gram. de sel par litre. Elle paraît ne s'achever qu'à saturation complète, à la température du laboratoire.

§ **2**. — Les sels qui ne précipitent pas les cellulines en milieu

neutre, tels que les chlorures de sodium et d'ammonium, les précipitent plus ou moins complètement en présence d'une quantité faible d'un acide minéral ou organique ; de même des doses des sulfates de magnésie ou d'ammoniaque, très inférieures à celles qu'il faut employer pour obtenir un précipité en milieu neutre, précipitent totalement les cellulines en milieu acide.

L'étude de l'action précipitante combinée des acides et des sels m'a donné les quelques résultats suivants :

1° La dose minima d'acide, nécessaire pour produire un début de précipitation en présence du chlorure de sodium à saturation, est de 1 gr. 35 d'acide acétique par litre (exprimé en HCl), environ.

2° Les acides, employés à la dose minima ou à une dose peu supérieure, ne manifestent pas toujours leur activité instantanément : l'apparition du précipité est d'autant plus tardive qu'il y a moins de cellulines en solution.

3° Les acides, employés à la dose minima ou à une dose peu supérieure, n'épuisent leur activité que très lentement. En effet, si l'on filtre la liqueur dès l'apparition du précipité formé dans ces conditions, le filtrat, d'abord clair, se trouble après quelques minutes par précipitation de nouvelles parties de celluline.

4° Les acides, employés à la dose minima ou à une dose peu supérieure, même quand on leur a laissé le temps d'épuiser leur action à ces doses, laissent en solution des parties de celluline précipitables par addition de nouvel acide : à un liquide C, préalablement salé, on ajoute juste assez d'acide pour faire apparaître un précipité net, on filtre après un quart d'heure ; le filtrat clair ne se trouble pas spontanément, mais se trouble si l'on ajoute une nouvelle quantité d'acide.

La dose d'acide acétique nécessaire et suffisante (dose maxima utile) pour précipiter totalement les cellulines en présence du NaCl à saturation est de 2 gr. 85 (en HCl) par litre, environ.

5° Les divers acides minéraux, les acides acétique, tartrique, oxalique, lactique, ajoutés en quantité suffisante, sont capables de précipiter les cellulines en présence des sels neutres.

6° L'addition d'acide en excès ne redissout pas le précipité. La neutralisation le redissout immédiatement ; cependant, si l'action de l'acide a été prolongée quelque temps, la redissolution est incomplète, ce qui tient peut-être à une transformation partielle des cellulines en dérivés acides.

7° La précipitation commence, en présence d'un excès d'acide, dès que la solution renferme 30 grammes par litre de chlorure de sodium environ ; elle est totale un peu avant que la solution soit saturée de chlorure de sodium.

§ **3**. — La dilution ou la dialyse ne précipitent pas les cellulines hépatiques : elles sont donc solubles dans l'eau pure, sans la coopération des sels neutres ou alcalins. On observe souvent un trouble des solutions soumises à la dialyse : il tient à la précipitation d'un reste de cytosine, ainsi qu'il est facile de s'en assurer par les réactions propres à cette substance ; après filtration, les liquides ainsi troublés ne se montrent nullement appauvris en cellulines.

II. — *Action des acides*. — Nous savons déjà que les acides minéraux affaiblis et les acides organiques ne troublent pas les liquides C ; mais ils modifient très rapidement les albumines de ces liquides. En effet, si l'on neutralise l'acidité par addition d'un alcali ou d'un carbonate alcalin, il se produit un trouble abondant, soluble seulement dans un excès d'alcali, comme si les cellulines s'étaient transformées en dérivés acides.

Les acides minéraux concentrés précipitent les cellulines, puis les dissolvent lentement : réaction banale des albumines en général.

III. — *Action de la chaleur. Influence des sels, des acides et des alcalis sur cette action*. — § **1**. — Les liquides C chauffés lentement au bain-marie se troublent à 48°, et un coagulum y apparaît vers 51°. Si l'on sépare le coagulum par le filtre, et qu'on élève à nouveau la température, un deuxième

trouble apparaît vers 52°, et un deuxième coagulum vers 55°. Si l'on sépare ce deuxième coagulum par le filtre et qu'on élève à nouveau la température, un troisième trouble apparaît vers 56°, et un troisième coagulum vers 58° à 60°. On peut ainsi obtenir des coagula de 3° à 5° en 3 à 5 environ, jusqu'à 75°. Selon que l'on chauffera plus ou moins vite, on pourra faire varier les points de coagulation de 1° à 2°. De plus, si l'on filtre après avoir chauffé à 50° pour enlever le trouble formé à cette température, le coagulum, attendu à 51°, ne se produira pas avant 54°. De même si l'on filtre à 54°, le coagulum, attendu à 55°, ne se produira que vers 58°. Aussi ne me prononcerai-je pas sur la position des points de coagulation des cellulines : seuls le point d'apparition du premier trouble, 48°, et le point d'apparition du dernier coagulum, 75°, m'ont paru relativement fixes si l'on s'en tient à l'étude des liquides C non modifiés.

L'addition des sels neutres déplace les points de coagulation des cellulines.

Le liquide C, additionné de son volume d'une solution saturée de chlorure de sodium ou de sulfate de magnésie ne se trouble pas avant 54° et coagule vers 56°-57°. Le même liquide C additionné de son volume d'une solution saturée de chlorure d'ammonium présente à 48°, non plus un trouble, mais un coagulum. Corrélativement, la dialyse abaisse notablement les points de coagulation des cellulines : les liquides C très appauvris en sels coagulent déjà vers 38°-40° et, dès 60°-65°, la coagulation est totale ; l'addition de sels à ces liquides ramène les points de coagulation à leur niveau normal. Enfin dans les liquides C très fortement dialysés, la coagulation n'est plus possible : elle le redevient par addition de sels neutres (NaCl).

§ **2.** — La coagulation des cellulines ne se produit plus, dans les liquides C, si l'on y ajoute une dose convenable d'acides ou d'alcalis.

Les cellulines sont plus ou moins sensibles à cette influence

suivant la dose des sels présents. Dans les solutions dialysées, la moindre addition de carbonate de soude dilué ou d'acide acétique affaibli empêche toute coagulation. Dans les liquides C tels que, ou additionnés d'une faible proportion de sels, la coagulation est encore possible dans des milieux qui rougissent ou bleuissent nettement le tournesol, mais un très léger excès amène l'incoagulabilité.

Si après avoir chauffé un liquide C acidifié et incoagulable, on le refroidit, et qu'on neutralise ensuite l'acidité, il ne se forme aucun précipité ; mais la coagulation est redevenue possible et se produit si on chauffe ce liquide neutre. Le liquide C alcalinisé se comporte de même, *mutatis mutandis*.

IV. — *Réactions du coagulum obtenu par la chaleur.* — Le coagulum formé à chaud dans les solutions neutres de cellulines est soluble dans l'acide acétique fort, immédiatement à chaud, rapidement à froid. Cette dissolution n'a pas lieu dans les milieux riches en sels.

Le coagulum redissous précipite si l'on neutralise l'acidité.

Au contraire, l'ammoniaque ne dissout pas les cellulines coagulées.

Les acides faibles (HCl à 1/1000) gonflent le coagulum, sans le dissoudre, après quelques heures de contact. Les alcalis faibles sont sans action.

La pepsine chlorhydrique digère les cellulines, coagulées ou non, en laissant un résidu peu abondant, jaune ou brun.

Étude des cellulines purifiées. Essais de séparation d'espèces distinctes. — § **1.** — La purification des cellulines n'offre aucune difficulté apparente. Il suffit de les précipiter par addition de sulfate d'ammoniaque et de redissoudre le précipité dans l'eau distillée : en répétant cette opération on obtient des cellulines débarassées des autres éléments du liquide C.

Ces albumines, précipitées en bloc, sont de couleur brunâtre, mais si l'on recueille séparément les précipités formés par l'ad-

dition de doses successives de sel, on constate que les premiers seuls sont colorés et donnent des solutions colorées, mais que les suivants sont incolores et donnent des solutions incolores.

La redissolution des cellulines est facile et rapide dans l'eau distillée. Sur les solutions pures ainsi préparées, on peut vérifier aisément les réactions observées au cours de l'étude du liquide C.

Mais la coagulation par la chaleur m'a paru fournir des résultats assez différents :

Le premier coagulum apparaît, non plus à 51°, mais de 52° à 54° ; le deuxième, de 58° à 62° ; le troisième, de 65° à 68° et il ne s'en forme pas un quatrième au-dessus de cette dernière température.

(Ces chiffres sont relevés dans des solutions additionnées de la quantité de NaCl (1/120 environ) nécessaire pour que la coagulation soit possible.)

En possession de ces éléments j'ai tenté de séparer par précipitations fractionnées trois albumines correspondant aux trois points de coagulation observés : j'ai obtenu quelques résultats comparables, un plus grand nombre de résultats discordants ; je ne puis me prononcer avant de nouvelles recherches.

§ **2.** — On a vu que Plosz et Halliburton ont obtenu, après digestion peptique des albumines hépatiques, un résidu insoluble de nucléine ; la digestion du liquide C, coagulé ou non, m'a fourni le même résidu : aussi ai-je essayé d'isoler, d'entre les cellulines, la nucléo-albumine des auteurs. Si l'on sépare par le filtre les coagula successifs formés dans le liquide C par l'action de la chaleur, on constate que c'est le coagulum formé entre 55° et 60° qui laisse un résidu. D'autre part, si l'on sépare les précipités successifs formés dans le liquide C par l'action du sulfate d'ammoniaque, on constate que c'est le précipité formé entre 140 et 200 gram. de sel par litre qui laisse un résidu. Or, ce précipité ne renferme pas — sur ce point les expériences sont concordantes — de substance coagulable de 55° à 60°, et ses solutions ne coagulent pas avant 65° à 68°.

De plus, à mesure que l'on purifie les cellulines par de nouvelles reprécipitations et redissolutions, le résidu de la digestion peptique devient moins abondant. Ces observations conduisent à se demander si la substance pigmentaire résiduale fait partie intégrante d'une molécule nucléo-albuminique, ou si elle est simplement adhérente à des molécules protéiques diverses, qui l'entraînent par leur précipitation.

Position des cellulines hépatiques dans la classification des albuminoïdes. — I. — *Parallèle entre les cellulines et les albumines de Plosz et de Halliburton.* — Le liquide obtenu par Plosz au moyen du sérum à 0,75 p. 100 a dû entraîner les cellulines : il les y a vues se coaguler à 45°, à 60° et à 75° (nucléo-albumine).

D'autre part, les cellulines décrites dans ce chapitre répondent à la fois aux globulines, à la nucléo-albumine et à l'albumine de Halliburton. Sans tenir compte de quelques divergences dans la fixation des points de coagulation, on doit retenir des différences essentielles entre les réactions observées par Halliburton et celles qui sont indiquées ici. Ces différences me paraissent s'expliquer par l'hypothèse qu'un acide a été introduit fortuitement dans les milieux de Halliburton, et qu'un peu de cytosine y est demeurée. On comprend ainsi pourquoi les albumines, entre ses mains, ont précipité en totalité par le sulfate de magnésie (acidité) ; pourquoi elles ont précipité par l'acide acétique (reste de cytosine) et se sont redissoutes dans un excès ; pourquoi elles ont précipité par dialyse (reste de cytosine).

II. — *Parallèle entre les cellulines et la séro-albumine.* — Si les cellulines sont bien réellement solubles dans l'eau pure et imprécipitables en totalité par le sulfate de magnésie, elles doivent être rapprochées, par ces propriétés mêmes, de la séro-albumine du sang. Elles s'en distinguent et se distinguent entre elles par leurs points de coagulation relativement peu élevés et

multiples, par leur précipitation partielle au moyen du sulfate de magnésie.

Sans doute, des caractères différentiels d'une valeur analogue n'ont pas été jugés suffisants pour scinder l'ovalbumine et pour la séparer de la séro-albumine.

Mais je n'ai pas cru pouvoir, quant à présent, désigner les albumines étudiées dans ce chapitre sous le nom de sérines, ni sous un vocable employé au singulier. On voudra bien considérer le mot de « cellulines » comme une simple abréviation d'attente, et ne pas lui attribuer une valeur générique.

CHAPITRE VI

Congulation spontanée du foie.

Nous avons vu, au début de ce travail, que la bouillie de foie, abandonnée à elle-même à la température de l'étuve, se prenait rapidement en un caillot d'où exsudait un sérum. Il convient d'examiner de plus près ce phénomène et d'en rechercher les causes à l'aide des notions acquises sur les albumines de la cellule hépatique.

Si l'on place à l'étuve la bouillie de foie préparée, sans addition de sérum ou d'eau, par pression forte au moyen d'une machine, on constate après six, huit, dix heures ou plus, qu'il s'y trouve une masse tremblotante, friable, de la consistance du blanc d'œuf durci, parfois dissociée par le passage de bulles gazeuses, et de couleur brune. Ce caillot nage dans un sérum ambré, tout à fait comparable au liquide C, mais plus foncé, à la surface duquel flottent des bulles de gaz. Il s'est formé de l'acide carbonique (?) et de l'hydrogène sulfuré dont on perçoit l'odeur, mêlée à l'odeur de l'alcool (1). La réaction du milieu est acide.

Le liquide B + 8 Aq mis à l'étuve coagule en flocons albumineux dont les uns tombent au fond du vase, tandis que les autres, soulevés par les gaz, flottent à la surface du liquide.

Enfin, un fragment de foie, prélevé aseptiquement après un lavage intra-vasculaire au sérum stérilisé, coagule également. En effet, broyé avec du sable après son séjour à l'étuve, il fournit un liquide qui filtre clair et aisément, au lieu de filtrer trouble

(1) La distillation du liquide donne des traces d'alcool, qu'on peut déceler par la production d'iodoforme avec I et KOH.

et péniblement comme le fait le liquide B ; par conséquent, les granulations ont été réunies et agglutinées *in situ* par une sorte de collage intra-cellulaire. Il résulte de là que la coagulation du foie est un phénomène spontané et que le broyage et l'invasion microbienne sont étrangers à sa production.

Des fragments de foie aseptiques, abandonnés en boîtes de Pétri à la température du laboratoire, coagulent en vingt-quatre à quarante-huit heures ; placés dans la glacière (2° à 4°), ils coagulent en six à huit jours.

Pour savoir quelle albumine d'entre celles de la cellule hépatique a été coagulée, examinons le sérum. On y trouve toutes les cellulines du liquide C précipitables par le sulfate d'ammoniaque, coagulables par la chaleur en milieu neutre. L'acide acétique sans excès ou en excès n'y détermine l'apparition d'aucun précipité, même après addition d'eau distillée ; donc la cytosine y fait défaut.

D'autre part, préparons un liquide C bien exempt de cytosine, assurons-nous, en le portant un instant à 40°, qu'il ne coagule pas à cette température, ce qui peut arriver s'il est pauvre en sels ; puis plaçons-le à l'étuve à 37° : il ne coagule pas.

Préparons la cytosine, redissoute dans le minimum de carbonate de soude : elle coagule. Laissons enfin à l'étuve la cytosine en suspension dans l'eau distillée, et non dissoute ; en quelques heures, elle perd le pouvoir de se redissoudre dans le carbonate de soude faible : elle est coagulée.

Par conséquent, c'est bien la cytosine et elle seule qui constitue le coagulum du liquide B, emprisonnant, comme on sait, les granulations dans sa trame.

Il convient dès lors de rechercher la cause de cette coagulation, et s'il ne s'agit pas, comme on pourrait le penser, d'une simple précipitation par les acides qui se forment spontanément dans la bouillie de foie placée à l'étuve.

Pour cette recherche, versons, dans une série de tubes, 10^{cc} du liquide B + 2 Aq ; ajoutons dans le premier tube deux gouttes

d'une solution de carbonate de soude au 1/10, dans le deuxième quatre gouttes, etc. Plaçons les tubes à l'étuve : les solutions les moins alcalinisées coagulent, les plus alcalinisées restent inchangées.

Vérifions alors la réaction des milieux : le liquide des tubes coagulés rougit le tournesol, le liquide des tubes incoagulés le laisse bleu. Il m'a paru que huit à dix gouttes de la solution de CO^3Na^2 à 1/10 suffisaient à empêcher la coagulation et l'acidification de 10^{cc} du liquide T ; mais ce n'est là qu'un chiffre moyen sur lequel il ne faudrait pas tabler, car il est probable que la teneur du foie en substances acidifiables influe sur l'intensité du phénomène, intensité qui m'a paru très variable.

Quoi qu'il en soit, il ressort de ce fait que la coagulation de la cytosine est influencée par la réaction du milieu. Mais le carbonate de soude a-t-il empêché la coagulation en saturant l'acide formé, ou bien en contrariant l'action d'un ferment coagulant ?

Pour le savoir, plaçons dans des tubes le liquide B, et du carbonate de chaux stérilisé en excès : la coagulation se produit, bien que l'acidité ait été saturée au fur et à mesure de son développement. On ne doit pas s'arrêter à cette objection que les bulles d'acide carbonique dégagé ont pu précipiter la cytosine, car on sait que cet acide n'agit pas sur le liquide B + 2 Aq, à cause de la présence des sels.

D'autre part, si l'on prépare des solutions de cytosine purifiée, l'acidité n'apparaît pas et le coagulum se forme cependant.

Enfin si la coagulation de la cytosine était une simple précipitation par les acides, le coagulum se dissoudrait dans les carbonates alcalins ou les acides en léger excès : il est facile de vérifier que cette redissolution est impossible.

De l'ensemble de ces observations, il me paraît ressortir que la coagulation de la cytosine est une coagulation véritable, et non une précipitation.

Il est à présumer que cette coagulation est due à l'action d'un ferment : je n'ai pas cherché à préparer ce ferment, mais il

semble possible de le séparer de la cytosine ; celle-ci, en effet, après 5 à 6 reprécipitations et redissolutions successives, est devenue incoagulable. J'ai vérifié, de plus, que le fluorure de sodium à 1 p. 100 et le chloroforme n'empêchent pas la coagulation des liquides B, tandis qu'elle ne se produit pas en présence de 1 p. 1000 de formol.

Enfin, j'ai fait quelques expériences pour savoir si cette coagulation est entravée par les agents chimiques qui entravent la coagulation du sang ou du lait : du foie, broyé dans l'oxalate de potasse à 1 p. 100 fournit un liquide B qui coagule parfaitement.

La cytosine, purifiée et redissoute dans l'oxalate de potasse à 1 p. 500, coagule de même. Or, on sait que la présence de ce sel, dans la proportion de 1 p. 1000, empêche la coagulation du sang (Arthus).

Par conséquent, si la coagulation du foie est l'œuvre d'un ferment, il ne semble pas que la présence des sels de chaux soit une condition nécessaire de cette action diastasique.

La rigidité cadavérique du foie ne m'a pas paru être la manifestation extérieure de la coagulation de la cytosine, qui se produit beaucoup plus tard. Comme je l'ai indiqué au chap. III, j'ai observé à plusieurs reprises des foies devenus très fermes, quelques instants après la mort ; les albumines y étaient en tout semblables à celles des foies demeurés flasques. Par conséquent, il semble que le phénomène de la coagulation spontanée du foie soit indépendant du phénomène de la rigidité cadavérique.

TABLE DES MATIÈRES

Pages.

CHAPITRE I. — *Introduction* 5

CHAPITRE II. — *Historique* 8

CHAPITRE III. — *Technique* 14

CHAPITRE IV. — *Cytosine hépatique* 19

CHAPITRE V. — *Cellulines hépatiques* 33

CHAPITRE VI. — *Coagulation du foie* 42

Vu : Le Doyen,

BROUARDEL.

Vu par le Président de thèse,

HUTINEL.

Vu et permis d'imprimer :

Le Vice-recteur de l'Académie de Paris,

GRÉARD.

IMPRIMERIE A.-G. LEMALE, HAVRE